

## 非アルコール性脂肪性肝疾患に対する 漢方薬十全大補湯の効果の検討

帝京大学医学部 調査研究者氏名 高橋 芳久

〒 173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1 電話番号：03-3964-1211

### 要旨

目的：我々は最近、2種類の非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）動物モデルの肝病変を漢方薬の十全大補湯が抑制することを発見した。しかし、用量・反応関係は未だ調べられておらず、また同漢方薬がNASH発癌まで抑制するかは明らかでない。本研究では、低用量、高用量の十全大補湯が、発癌まで生じるNASHモデルマウスであるTSODマウスの肝病変を抑制するかを調べた。

方法：雄のTSODマウスを以下の3群に分けた：コントロール群（MF dietを自由摂食）、低用量群（0.15%（w/w）十全大補湯添加MF dietを自由摂食）、高用量群（1.5%（w/w）十全大補湯添加MF dietを自由摂食）。9ヵ月齢時に各群6匹を屠殺し、血清生化学データや肝臓の壊死炎症反応を評価した。15ヵ月齢時に各群残り10匹を屠殺し、肝腫瘍の発生状況を調べた。

結果：血清AST、ALT値は、低用量群、高用量群ともコントロール群よりも高値であり、低用量群とコントロール群の間には有意差が見られた。9ヵ月齢時の肝組織像において、小葉内炎症は、低用量群、高用量群ともコントロール群よりも有意に高度であった。15ヵ月齢時の肝腫瘍発生率は、低用量、高用量群ともコントロール群よりも高く、マウスあたりの肝腫瘍数は、低用量、高用量群ともコントロール群の約2倍と、有意に多かった。

考察：今回の結果から、十全大補湯はTSODマウスの肝臓に壊死炎症反応を引き起こし、肝腫瘍を誘発することが示された。肝臓の壊死炎症反応に関しては、十全大補湯がTSODマウスのNASH病変そのものを増悪させるというよりは、薬物性肝障害によると考えられた。肝腫瘍発生の原因としては、肝障害に伴う活性酸素の産生、肝細胞増殖能の増加などが予想される。今後は、メカニズム解明のための検討を加え、さらに十全大補湯のヒト肝臓への影響を後ろ向き研究で調べる予定である。

### 1、調査研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患（nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD）はアルコール多飲歴のない患者の肝臓に大量の脂肪が蓄積する疾患である。NAFLDは、肝細胞の脂肪化のみが見られる単純性脂肪肝と、肝細胞の脂肪化のみならず小葉内炎症や肝細胞の

風船状腫大を伴う非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) に分けられる。NASH は進行性の疾患であり、肝硬変や肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma: HCC) に進展しうる<sup>1,2)</sup>。

NAFLD/NASH はメタボリック症候群に関連する肝疾患と考えられている<sup>3)</sup>。肥満の増加に伴って NAFLD/NASH の頻度は全世界的に急速に増加しており、最近では NAFLD、NASH の頻度をそれぞれ 46%、12% とする報告もある<sup>4)</sup>。現在 NAFLD/NASH は最も頻度の高い慢性肝疾患であり、将来的にはわが国の HCC の原因の第 1 位になるであろうと予測されている。

現在のところ、NAFLD/NASH の治療は食事制限や運動による生活習慣の改善が基本である。しかし、肥満を伴う NAFLD 患者が生活習慣の改善を維持することはしばしば困難であるため、薬物治療の開発が切望されている。しかし、NAFLD/NASH に対する最も適切な薬物治療は未だ確立されていない。

漢方薬はわが国の伝統的治療薬であり、その効果や安全性から現在も広く用いられている。多くの漢方薬が抗酸化作用や抗炎症作用を有することから<sup>5-7)</sup>、NAFLD/NASH に対する抑制効果が期待される。我々は最近、メチオニン・コリン欠乏 (methionine- and choline-deficient: MCD) 食負荷 db/db マウスの NASH 病変に対しては小柴胡湯と十全大補湯が、高脂肪 (high-fat: HF) 食負荷 db/db マウスの NASH 病変に対しては小柴胡湯、茵陳蒿湯、十全大補湯が抑制効果を示すことを明らかにした<sup>8,9)</sup>。しかし、これら漢方薬の NASH 抑制効果における用量反応関係は未だ調べられておらず、最も適切な使用量は確立されていない。また、これら漢方薬が NASH 発癌まで抑制するかは未だ不明である。Tsumura Suzuki obese diabetes (TSOD) マウスは、肥満や 2 型糖尿病を発症するマウスである。最近、TSOD マウスは特別な処置を講じなくても NASH や肝発癌を生じることが報告され<sup>10)</sup>、同マウスは NASH および NASH 発癌の優れた動物モデルと考えられる。本研究で、我々は低用量および高用量の十全大補湯を TSOD マウスに混餌投与し、NASH や肝発癌に対する抑制効果を検討した。結果として、意外なことに、低用量・高用量のいずれでも十全大補湯が TSOD マウスの肝臓に壊死炎症反応を引き起こし、肝腫瘍を誘発することが判明した。

## 2、調査研究方法

### 2-1 動物実験

6 週齢、雄の TSOD マウス 48 匹を動物繁殖研究所 (かすみがうら) から購入した。1 週間環境に馴化させた後、以下の 3 群に分けた (各群 16 匹)；

- ・コントロール群：コントロール食 (MF diet) (オリエンタル酵母、東京) を自由摂食させる
- ・低用量群：0.15% (w/w) 十全大補湯添加 MF diet を自由摂食させる
- ・高用量群：1.5% (w/w) 十全大補湯添加 MF diet を自由摂食させる。

各飼料は冷蔵庫（4℃）に保存し、週3回交換した。その際に摂食量を記録した。動物実験は帝京大学中央実験動物施設で、気温 25℃、湿度 45% の環境下で行った。

9 ヶ月齢時に、肝臓の壊死炎症反応を評価するために、各群 6 匹ずつを断頭により屠殺した。屠殺前には一晩絶食し、体重を測定した。断頭の際に血液を採取し、遠心により血清を回収した。各マウスの肝臓を切除し、重量を測定後、組織学的評価、RNA 精製、凍結保存用の検体を採取した。組織学的評価には、大きな肝葉 2 個の最大断面を用いた。

15 ヶ月齢時に、肝腫瘍を評価するために、各群残り 10 匹ずつをイソフルランによる深麻酔後に頸椎脱臼により屠殺し、剖検を行った。肝臓は 2mm 間隔で全割し、肉眼的・組織学的に腫瘍を評価した。肝臓以外の臓器についても肉眼所見を観察し、代表的な断面を組織標本にした。

## 2-2 血清の生化学的解析

血清 aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、総コレステロール、トリグリセリド、血糖値は日立 7180 型自動分析装置（日立ハイテクノロジー、東京）を用いて、通常通りの方法で測定した。血清インスリン、アディポネクチン値は、それぞれ超高感度マウスインスリン測定キット（森永生科学研究所、横浜）、マウス/ラットアディポネクチン ELISA キット（大塚製薬、東京）を用いて enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。

## 2-3 肝臓の組織学的評価

組織標本は、10% ホルマリンで固定後、通常の方法で作製した。9 ヶ月齢の屠殺群では、ヘマトキシリン・エオジン（hematoxylin and eosin: HE）染色とともに、線維化の評価を行うためにシリウス・レッド染色を施行した。

9 ヶ月齢の屠殺群では、脂肪性肝炎の組織病理学的特徴を、Kleiner らの方法<sup>11)</sup>に従って半定量的に評価した。すなわち、肝細胞の脂肪化は、大滴性あるいは小滴性脂肪化を伴う肝細胞の数で評価し、以下の様に分類した：グレード 0 (<5%)、グレード 1 (5-33%)、グレード 2 (>33-66%)、グレード 3 (>66%)。小葉内炎症は次の様に分類した：0 (病変なし)、1 (200 倍視野あたり 2 病変未満)、2 (200 倍視野あたり 2-4 病変)、3 (200 倍視野あたり 4 病変を超える)。門脈域炎症は次の様に分類した：0 (なし：リンパ球は観察されない)、1 (軽度：いくつか、あるいはすべての門脈域におけるまばらなリンパ球浸潤)、2 (中等度：大部分の門脈域における、より密なリンパ球浸潤)、3 (高度：大部分あるいはすべての門脈域における密なリンパ球浸潤)。肝細胞の風船状腫大は、以下の様に分類した：0 (なし)、1 (少数)、2 (多数/顕著)。NAFLD 活動性スコア (NAFLD activity score: NAS) は脂肪化 (0-3)、小葉内炎症 (0-3)、肝細胞の風船状腫大 (0-2) のスコアの合計値として算出した。類洞周囲性線維化は、以下の様に分類した：0 (なし)、1 (軽度)、2 (中等度)。線維化ステージは次の様に分類した：0 (なし)、1 (類洞周囲性あるいは門脈域の線維化)、2 (類洞周囲性 + 門

脈域の線維化)、3(架橋状線維化)、4(肝硬変)。

15ヵ月齢の屠殺群では、肝腫瘍を肉眼的、組織学的に評価した。組織学的に肝細胞腺腫 (hepatocellular adenoma: HCA) と HCC が認められ、それらを確立された診断基準<sup>12)</sup>に従って診断した。

## 2-4 統計的解析

連続性データは平均±標準偏差で表し、分散分析法で有意差検定を行った。病理学的所見に関する半定量的データは中央値(最小値-最大値)で表し、Kruskal-Wallis 検定で有意差検定を行った。P < 0.05 の場合を統計的有意差ありと判定した。

## 3、調査研究成果

### 3-1 摂食量、体重、肝重量

実験期間中に死亡したマウスは、肝腫瘍観察用のコントロール群マウスの1匹のみであり、死因は特定出来なかった。表1に各群マウスの、1匹1日あたりの摂食量、9ヵ月齢時の体重、肝重量、肝/体重比を示す。摂食量は、定用量、高用量群ともコントロール群に比して有意に少なかった。しかし体重、肝重量、肝/体重比は、各群に有意差は見られなかった。

### 3-2 血清生化学データ

表2に9ヵ月齢での各群マウスの血清生化学データを示す。血清AST、ALT値は低用量群、高用量群ともコントロール群よりも高値であり、低用量群とコントロール群の間には有意差が見られた。総コレステロール値や血糖値は各群に有意差は見られなかったが、トリグリセリド値は低用量群、高用量群ともコントロール群よりも低く、低用量群とコントロール群の間には有意差が見られた。インスリン値は低用量群や高用量群とコントロール群の間に有意差は見られなかったが、アディポネクチン値は低用量群、高用量群ともコントロール群よりも有意に高値であった。

### 3-3 肝組織像

9ヵ月齢において、コントロール群のマウスには肝細胞の脂肪化や小葉内炎症、肝細胞の風船状腫大が見られ、NASHに矛盾しない組織像を示した。ただし、肝脂肪の脂肪化は小滴性が主体であった。表3に各群マウスの肝組織像のデータを示す。小葉内炎症は、低用量群、高用量群ともコントロール群より有意に高度であった。肝細胞脂肪化、門脈域炎症、肝細胞風船状腫大、NAS、類洞周囲性線維化、線維化ステージは、各群間に有意差は見られなかった。この時点では、肝腫瘍はいずれの群においてもごくわずかしか見られなかった。

### 3-4 肝腫瘍

15ヵ月齢において、各群に高率に肝腫瘍の発生が見られた。各群マウスにおける肝腫瘍の発生状況を表4に示す。肝腫瘍全体、HCA、HCCの発生率は、低用量群や高用量群がコントロール群よりも高かった。マウスあたりの肝腫瘍数は、低用量群や高用量群はコントロール群の約2倍であり、その差は統計学的に有意であった。マウスあたりのHCA数も低用量群や高用量群はコントロール群よりも多く、低用量群とコントロール群の間には有意差を認めた。統計学的有意差はないものの、マウスあたりのHCC数も、低用量群や高用量群はコントロール群よりも多かった。腫瘍径は、各群に有意差は見られなかった。肝臓以外の臓器の腫瘍は、肺の腺腫が少数のマウスに認められるのみであった。

## 4、考察

本研究は、十全大補湯がマウスのNASH病変およびNASH発癌を抑制するかを検討し、用量・反応関係を明らかにするために行われたが、結果として、十全大補湯は逆にTSODマウスの肝臓の壊死炎症反応を増悪させ、肝腫瘍を誘発することが明らかになった。その効果に、明らかな用量・反応関係は見られなかった。我々の知る限り、これは漢方薬が動物に腫瘍を誘発した初の報告である。

本研究で、十全大補湯投与群では、コントロール群に比して血清AST、ALT値が高値であり、特に低用量群ではコントロール群との間に有意差が見られた。これは、十全大補湯がTSODマウスに肝細胞障害を引き起こしたことを示唆する。組織学的評価で、十全大補湯投与群はコントロール群に比して小葉内炎症が有意に高度であったが、肝細胞の脂肪化や風船状腫大に対する明らかな増悪作用は見られなかった。従って、十全大補湯はTSODマウスのNASH病変そのものを増悪させたのではなく、肝細胞障害性の薬物性肝障害を引き起こした可能性が高いと考えられる。血清生化学的に、トリグリセリド値は十全大補湯投与群がコントロール群よりも低値であり、低用量群とコントロール群との間には有意差が見られた。脂質異常症はNASHの重要な危険因子であるが、この結果は十全大補湯がTSODマウスの脂質異常症を改善した可能性を示唆する。また、血清アディポネクチン値は低用量群、高用量群ともコントロール群よりも有意に高値であった。アディポネクチンは脂肪細胞から分泌される抗炎症性サイトカインであり、肝臓における脂肪の蓄積、炎症、線維化に対して抑制的に働く<sup>13)</sup>。従って、本研究で十全大補湯は脂質異常症の改善やアディポネクチンの増加を介して、NASH病変そのものに対しては抑制的に働いていた可能性がある。これは、我々の以前の研究で十全大補湯がMCD食負荷db/dbマウスやHF食負荷db/dbマウスのNASH病変を抑制したことに合致する。しかし、TSODマウスに対しては薬物性肝障害を引き起こし、結果として肝臓の壊死炎症反応を悪化させたものと思われる。

漢方薬は天然成分から構成されており、またわが国において長年の使用経験があることから、比較的安全と考えられている。またセルフメディケーションが推奨されているこ

ともあって、一般用医薬品としての漢方薬の使用はますます増加している。しかしながら、漢方薬にも種々の副作用が存在する。薬物性肝障害はその一つであり、0.6%までの発生率が報告されている<sup>14)</sup>。薬物性肝障害は中毒性肝障害と特異体質性肝障害に分類される。今回の研究で、体重あたりの十全大補湯摂取量は、低用量群ではヒトにおける通常の服用量と同程度、高用量群ではその10倍である。我々の以前の研究で、今回の高用量群と同濃度の十全大補湯はdb/dbマウスに明らかな肝障害をもたらしておらず<sup>8,9)</sup>、また今回の研究で明瞭な用量・反応関係が認められていないことから、本実験における肝障害は特異体質性肝障害と考えられる。薬物性肝障害の発生にはtumor necrosis factor- $\alpha$ 、interferon- $\gamma$ 、interleukin-1 $\beta$ など種々のサイトカインが関与することが知られており<sup>15)</sup>、今回の十全大補湯による肝障害のメカニズム解明のために、今後それら分子の発現解析を行う予定である。

今回の研究で、十全大補湯投与群はコントロール群に比して肝腫瘍の発生率が高く、マウスあたりの腫瘍数は約2倍と、有意に多かった。今回の研究で、十全大補湯は肝臓の壊死炎症反応を増悪させており、それに伴う活性酸素の産生や、炎症・再生過程における肝細胞増殖能の増加が肝腫瘍発生に関与した可能性がある。今後は肝組織における4-hydroxynonenal (4-HNE)の測定、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)の免疫染色を行い、活性酸素による障害や肝細胞増殖能の評価を行う予定である。さらに十全大補湯による肝腫瘍誘発の詳細な分子的機序を解明するために、種々の癌遺伝子(c-Myc、cyclin D1など)や転写因子(nuclear factor- $\kappa$ Bなど)の発現解析を行う予定である。

我々の以前の研究で、十全大補湯は2種類のNASH動物モデル(MCD食負荷db/dbマウス、HF食負荷db/dbマウス)の肝病変を改善した<sup>8,9)</sup>。しかし、今回の研究で、別のNASH動物モデルであるTSODマウスの肝臓に十全大補湯は障害や腫瘍をもたらした。マウスの系統差による薬物代謝系の差異が、この様な異なった作用をもたらした可能性がある。十全大補湯は日常診療で頻用されている漢方薬であり、実際の患者の肝臓にどのような作用を示しているかが問題である。今後は、8週間以上にわたって十全大補湯を処方された患者において、血清AST、ALT、総コレステロール、トリグリセリド、血糖値がどのような変化を示していたか、後ろ向き調査を行う予定である。

## 5、まとめ

本研究により、漢方薬の十全大補湯がTSODマウスの肝臓に壊死炎症反応を引き起こし、肝腫瘍を誘発することが示された。今後は、そのメカニズムの解明を目指すとともに、ヒトの肝臓において十全大補湯がどのような作用を示すかを後ろ向き研究により検討する予定である。

## 6、調査研究発表(口頭又は誌上発表)

現在のところなし。上記の如く、メカニズムの解析、ヒトにおける作用を検討した上で

論文化する予定である。

## 7、引用文献

1. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43 (2 Suppl 1): S99-112.
2. Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 2011; 332: 1519-23.
3. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
4. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011; 140: 124-31.
5. Iizuka A, Iijima OT, Kondo K, Matsumoto A, Itakura H, Yoshie F, Komatsu Y, Takeda H, Matsumiya T. Antioxidative effects of Choi-oki-to and its ability to inhibit the progression of atheroma in KHC rabbits. *J Atheroscler Thromb* 2000; 6: 49-54.
6. Shiota G, Maeta Y, Mukoyama T, Yanagidani A, Udagawa A, Oyama K, Yashima K, Kishimoto Y, Nakai Y, Miura T, Ito H, Murawaki Y, Kawasaki H. Effects of Sho-saiko-to on hepatocarcinogenesis and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation. *Hepatology* 2002; 35: 1125-33.
7. Nagai T, Nakao M, Shimizu Y, Kodera Y, Oh-Ishi M, Maeda T, Yamada H. Proteomic analysis of anti-inflammatory effects of a Kampo (Japanese herbal) medicine "shoseiryuto (xiao-qing-long-tang)" on airway inflammation in a mouse model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011:604196.
8. Takahashi Y, Soejima Y, Kumagai A, Watanabe M, Uozaki H, Fukusato T. Inhibitory effects of Japanese herbal medicines sho-saiko-to and juzen-taiho-to on nonalcoholic steatohepatitis in mice. *PLoS One* 2014; 9: e87279.
9. Takahashi Y, Soejima Y, Kumagai A, Watanabe M, Uozaki H, Fukusato T. Japanese herbal medicines shosaikoto, inchinkoto, and juzentaihoto inhibit high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in db/db mice. *Pathol Int* 2014; 64: 490-8.
10. Nishida T, Tsuneyama K, Fujimoto M, Nomoto K, Hayashi S, Miwa S, Nakajima T, Nakanishi Y, Sasaki Y, Suzuki W, Iizuka S, Nagata M, Shimada T, Aburada M, Shimada Y, Imura J. Spontaneous onset of nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma in a mouse model of metabolic syndrome. *Lab Invest* 2013; 93: 230-41.

11. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.
12. Frith CH, Ward JM, Turusov VS. Tumours of the liver. In: Turusov V, Mohr U, eds. *Pathology of tumours in laboratory animals*. Vol 2. IARC Scientific Publications, Lyon, 223-270, 1994.
13. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2801-11.
14. Mantani N, Kogure T, Sakai S, Goto H, Shibahara N, Kita T, Shimada Y, Terasawa K. Incidence and clinical features of liver injury related to Kampo (Japanese herbal) medicine in 2,496 cases between 1979 and 1999: problems of the lymphocyte transformation test as a diagnostic method. *Phytomedicine* 2002; 9: 280-7.
15. Lavery HG, Antoine DJ, Benson C, Chaponda M, Williams D, Kevin Park B. The potential of cytokines as safety biomarkers for drug-induced liver injury. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66: 961-76.



表1 マウスの摂食量、体重、肝重量、肝/体重比

	コントロール群	低用量群	高用量群
摂食量 (g)	5.57 ± 0.69	5.38 ± 0.44 <sup>a</sup>	5.27 ± 0.57 <sup>a</sup>
体重 (g)	62.8 ± 3.3	62.1 ± 2.3	62.9 ± 3.5
肝重量 (g)	2.82 ± 0.28	2.93 ± 0.43	3.48 ± 0.55
肝/体重比 (%)	4.77 ± 0.64	4.72 ± 0.62	5.52 ± 0.62

平均 ± 標準偏差

<sup>a</sup> コントロール群に比して有意差あり (P < 0.05)

表2 9ヵ月齢時の血清生化学データ

	コントロール群	低用量群	高用量群
AST (IU/L)	230.2 ± 43.7	401.5 ± 125.8 <sup>a</sup>	293.0 ± 87.7
ALT (IU/L)	101.7 ± 16.2	162.2 ± 33.6 <sup>a</sup>	134.8 ± 43.8
総コレステロール (mg/dL)	250.0 ± 31.7	268.2 ± 56.2	270.8 ± 47.2
トリグリセリド (mg/dL)	246.4 ± 52.6	176.0 ± 46.4 <sup>a</sup>	227.0 ± 27.4
血糖 (mg/dL)	291.7 ± 174.2	288.7 ± 214.7	413.3 ± 93.0
インスリン (ng/mL)	12.44 ± 6.33	5.35 ± 2.06	13.82 ± 4.70
アディポネクチン (μg/mL)	5.77 ± 0.85	8.85 ± 1.18 <sup>a</sup>	7.57 ± 1.33 <sup>a</sup>

平均 ± 標準偏差

<sup>a</sup> コントロール群に比して有意差あり (P < 0.05)

表3 9ヵ月齢時の肝組織像

	コントロール群	低用量群	高用量群
肝細胞脂肪化	2 (1-2)	1.5 (1-2)	1.5 (1-2)
小葉内炎症	1.5 (1-2)	3 (2-3) <sup>a</sup>	3 (2-3) <sup>a</sup>
門脈域炎症	1 (1-2)	1.5 (1-2)	2 (1-2)
肝細胞風船状腫大	1 (1-1)	1 (1-2)	1 (1-2)
NAS	4 (4-5)	5.5 (4-7)	5 (4-7)
類洞周囲性線維化	1 (1-1)	1.5 (1-2)	1.5 (1-2)
線維化ステージ	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)

中央値 (最小値 - 最大値)

<sup>a</sup> コントロール群に比して有意差あり (P < 0.05)

表 4 15 ヲ月齡時の肝腫瘍

	コントロール群	低用量群	高用量群
マウス数	9	10	10
肝腫瘍を有するマウス数 (%)	6 (67%)	10 (100%)	10 (100%)
HCA を有するマウス数 (%)	6 (67%)	10 (100%)	9 (90%)
HCC を有するマウス数 (%)	3 (33%)	5 (50%)	6 (60%)
マウスあたりの肝腫瘍数 (平均 ± 標準偏差)	1.6 ± 1.6	3.3 ± 1.1 <sup>a</sup>	3.2 ± 1.6 <sup>a</sup>
マウスあたりの HCA 数 (平均 ± 標準偏差)	1.1 ± 1.1	2.6 ± 0.8 <sup>a</sup>	2.2 ± 1.1
マウスあたりの HCC 数 (平均 ± 標準偏差)	0.4 ± 0.7	0.7 ± 0.8	1.0 ± 1.1
肝腫瘍の径 (mm) (平均 ± 標準偏差)	8.2 ± 6.0	6.5 ± 4.4	8.3 ± 5.4
HCA の径 (mm) (平均 ± 標準偏差)	4.9 ± 2.7	4.6 ± 1.9	5.5 ± 2.2
HCC の径 (mm) (平均 ± 標準偏差)	16.5 ± 1.9	13.7 ± 3.2	14.3 ± 5.5

<sup>a</sup> コントロール群に比して有意差あり (P < 0.05)